

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

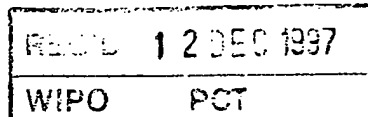
Defective images within this document are accurate representations of
The original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

PRVPATENT- OCH REGISTRERINGSVERKET
Patentavdelningen**Intyg
Certificate**

Härmed intygas att bifogade kopior överensstämmer med de handlingar som ursprungligen ingivits till Patent- och registreringsverket i nedannämnda ansökan.

This is to certify that the annexed is a true copy of the documents as originally filed with the Patent- and Registration Office in connection with the following patent application.

(71) Sökande Svenska Lantmännen riksförbund ek för, Stockholm
Applicant (s) SE

(21) Patentansökningsnummer 9604251-0
Patent application number

(86) Ingivningsdatum 1996-11-20
Date of filing

Stockholm, 1997-12-01

För Patent- och registreringsverket
For the Patent- and Registration Office

Evy Morin
Evy Morin

Avgift
Fee

PRIORITY DOCUMENT

Föreliggande uppfinning avser användning av produkter med enzymatisk aktivitet för framställning av födoämne, som inducerar antisekretoriska proteiner (ASP), och det på detta sätt framställda födoämnet.

Uppfinningens bakgrund

5 En kraftig sekretion av kroppssaft uppkommer under en rad olika situationer. Stort födointag inför kroppsansträngning leder lätt till sekretion av kroppsvätska in i tarmen. Kroppsansträngningen i sig leder till vätskeutflöde i muskler och leder. Detta fenomen ger upphov till stelhet och avtagande prestation. Retning av tarmväggen med olika agens ger lätt avföringen en obekvämt
10 lös konsistens.

I Sverige finns mer än 10.000 stomiopererade personer. Cirka 1000 tillkommer varje år. En icke obetydlig del av dessa personer är opererade med tunntarmsstomi (ileostomi). I de fall där de har en sekretion överstigande en liter dagligen uppstår ofta problem på grund av rikligt flöde i stomipåsen som kräver
15 täta byten och tömning av påsen. För enskilda personer medför detta betydande olägenheter med begränsningar i sociala aktiviteter, förvärvsförmåga, vätskebrist och kalori- och mineralbrist. Personer med denna problematik har haft svårt att få någon effektiv hjälp.

Under senare år har viktiga rön gjorts angående kroppens förmåga att
20 reglera nettoutflödet av vätska och elektrolyter i tarmen. Man har funnit ett flertal peptider med förmåga att befrämja resorptionen av vätska och elektrolyter genom tarmväggen. De viktigaste av dessa hormon-liknande peptider är somatostatin och neuropeptid γ (Krieger DT och Martin JB, N. Engl. J. Med. 304:876-885, 1981; Miller J., Regulatory peptides 4 (Suppl.): 203-208, 1985) samt de så kallade
25 antisekretoriska proteinerna (Lange S. och Lönnroth I., FEMS Microbiol. Letters 24: 165-168, 1984; Lange S. och Lönnroth I., Biochim. Biophys. Acta 883: 138-144, 1986). ASP motverkar sekretionen och ökar resorptionen av vätska och elektrolyter i tarmen.

T knikens ståndpunkt

30 Det är känt genom SE 9000028-2 (publiceringsnr 466331) att bildningen av en antisekretorisk faktor (ASF) eller antisekretoriskt protein kan stimuleras hos djur genom att utfodra djuren med ett foder, som försatts med aminosyror och/eller sockerarter i vissa mängder. Genom bildningen av denna antisekreto-

riska faktor kan man minska diarréer av olika orsaker hos djur. Genom att uppskatta halten av ASP genom en i patentet beskriven metod kan mängderna av aminosyror och sockerarter inställas så att en effektiv mängd ASP bildas till en kommersiellt intressant kostnad.

- 5 Det är också känt från t.ex. Khin-Maung-U och William Greenough III (J. Pediatrics 118, 72-85 (1991) att rismjöl och vetenmjöl samt avkok därav kan användas för rehydratisering av diarré. Ofta tillsätts salter för att kompensera för förlusten av dessa ämnen. Dessa beredningar syftar endast till att kompensera för den redan uppkomna vätskeförlusten.

10 **Kort beskrivning av uppfinningen**

- Uppfinningens syfte är att tillhandahålla ett födoämne, som lindrar eller
avhjälper de besvär och fenomen som är associerade med ovan beskrivna oönsk-
värda sekretion av kroppsvätskor. Syftet med uppfinningen uppnås genom att
man använder produkter med enzymatisk aktivitet för att tillhandahålla ett
15 födoämne som vid förtäring inducerar antisekretoriska proteiner.

Detaljerad beskrivning av uppfinningen

- Vid det fortsatta arbetet med att studera bildningen av ASP har det
överraskande visat sig att bildningen av ASP inte bara stimuleras genom tillsats
av aminosyror och sockerarter utan också av födoämnen, som har försatts med
20 enzymer som kan hydrolysera födoämnets innehåll av kolhydrater och proteiner
med en sådan hastighet att de i och för sig kända mängderna av sockerarter och
aminosyror uppstår i tarmkanalen. Bildningen av ASP har därvid överraskande
visat sig kunna kontrolleras eller styras genom att variera mängden och propor-
tionen av produkten med enzymatisk aktivitet. Härigenom kan födoämnen
25 framställas med en sådan sammansättning att halten ASP som bildas vid
upprepad förtäring kan förutsägas med rimlig grad av säkerhet. Det är särskilt
betydelsefullt emedan dossvaret varierar mellan olika kategorier av individer.

- Särskilt överraskande är upptäckten att mältade cerealier förmår ge
effektiva mängder av sockerarter och aminosyror. Härigenom öppnas möjligheten
30 att framställa födoämnen som är både näringsriktiga, välsmakande och har
förmågan att stimulera bildningen av ASP.

Uttrycket "födoämne" avses i föreliggande sammanhang att innefatta såväl
födoämne för humant bruk som foder för animalt bruk. Födoämnet är företrädes-
vis ett alster i form av bröd, kex, pasta, gryn och flingor, gröt eller välling men

kan vara en matberedning vari ingår kött och köttprodukter, fett och fettprodukter eller mjölk och mjölkprodukter.

Enligt en föredragen utföringsform används mältade cerealier vid framställningen av det ASP-inducerande födoämnet.

5 Uttrycket "cerealier" avser i föreliggande sammanhang att innefatta sedvanliga sädesslag eller spannmål såsom exempelvis vete, korn, råg, havre, ris, majs, hirs, durra och sorghum.

10 "Mältade cerealier" utgörs av sund och frisk spannmål som underkastas mältning. Mältningen innebär att spannmålskärnorna stöps och därefter får gro vid en noggrant kontrollerad vattenhalt och temperatur till dess groddanlagen vuxit ut. Groningstiden anpassas till respektive parti och slag. De grodda kärnorna torkas och avgroddas. Den därvid erhållna produkten utgör malt. I begränsad omfattning har därvid kärnans näringsämnen hydrolyserats och groddens enzymer aktiverats.

15 Vid framställning av födoämnesprodukter kan de mältade cerealierna ingå i blandning med omältade cerealier i sådana proportioner att ASP induceras vid förtäring av det sålunda framställda födoämnet.

20 Det har vid försök visat sig att cerealieprodukter, som även normalt utgör en anseelig del av dagligt födointag, kan kompletteras med enzymer eller företrädesvis maltprodukter för att man skall erhålla ett födoämne som vid förtäring ger den önskade ASP-induktionen.

25 De mängder och proportioner av de mältade och eventuellt omältade cerealier som krävs för att åstadkomma den avsedda effekten kan lätt fastställas av fackmannen genom rutinförsök, där svaret på födoämnets induktion mäts enligt den metod som anges i SE 9000028-2. Metoden innebär i korthet att man mäter ett standardiserat sekretionssvar i råttans tunntarm.

Det har visat sig att den ASP-nivå som krävs för att man skall uppnå den avsedda effekten är minst 0,5 enheter per ml blod.

30 Det är uppenbart att enligt uppfinningen framställda födoämnen kan varieras på ett stort antal sätt och ges olika utföringsformer. Härigenom kan enformighet i kosten undvikas. Olika individers behov av stimulans för att uppnå en effektiv ASP-koncentration kan tillgodoses genom att svaret på födointaget bestäms på angivet sätt. Man kan också genom uppfinningen kompensera för enzympreparats skiftande aktivitet, liksom för mältade cerealiers olika enzymatiska aktivitet.

35 Vidare är det uppenbart att födoämnet kan sammansattas på flera olika

sätt för att också motsvara krav på smaklighet och variation. Födoämnen beredda på basis av mältade cerealier kan framställas i form av frukostflingor, bröd, bullar och pastaprodukter, med utnyttjande av känd teknik. Vid framställning av produkter, som kräver uppfuktning med vatten, till exempel vid brödbak, 5 måste recepten ändras i enlighet med för bagare kända erfarenheter. Det är också uppenbart att produkterna kan formuleras som ett pulver, avsett att utlösas i vatten eller saft eller annat fluidum och förtäras som dryck.

Som exempel på köttprodukter, i vilka de mältade cerealierna kan ingå, kan nämnas grynkala eller korvkaka, där grynen tillförs som mältad produkt. 10 Avgörande är givetvis att födoämnet sammansätts så att önskvärd stimulans av bildningen av ASP uppnås.

Värdet av att kunna framställa födoämnen, som inducerar ASP på en i förhand bestämd nivå, framgår av att det finns många situationer där en minskad sekretion är önskvärd, såsom vid extrem kroppsansträngning. Således 15 är det väl känt att idrottsmän får problem med lös avföring när de pressar sig till sitt yttersta, samtidigt som de intar stora födo- och vätskevolymmer för att kunna förse kroppen med energirika kolhydrater. Liknande problem har brandmän och soldater, som dessutom får lös avföring på grund av de stress-situationer som de utsätts för. Ett speciellt problem uppstår vid framförande av snabba flygplan; 20 piloterna måste på grund av de höga G-krafterna ha blöja, vilket kan undvikas om avföringen görs fastare med ett nytt kosthåll. Födoämnen framställda i enlighet med föreliggande uppfinning har ett stort potentiellt värde i sådana situationer.

Uppfinningen åskådliggörs närmare medelst följande icke-begränsande 25 utföringsexempel.

Exempel 1

Försök med mältade cerealier till försökspersoner

Ett antal försökspersoner fick pröva olika frukostmåltider bestående av olika cerealieprodukter. Blodprov togs före och efter försöksperioden; från dessa 30 blodprov isolerades antisekretoriska proteiner (ASP) med hjälp av affinitets-kromatografi enligt den i SE 9000028-2 beskrivna metoden. Innehållet av ASP i proven bestämdes i bioassay i råttan enligt en tidigare beskriven metod (Lange S., FEMS Microbiol. Letters 15: 239-242, 1982). I korthet går metoden ut på att en ligerad slynga opereras mitt på råttans tunntarm, ASP-provet injiceras 35 intravenöst just innan koleratoxin, 3 µg, injiceras i tarmslyngan. Efter 5 timmar

avlivas djuret och vikten jämte längden av den fridissikerade tarmslyngan uppmätes; svaret (mg vätska per cm-tarm) hos djur som fått ASP-prov jämförs med kontroldjur som endast fått buffert.

Kosten som gavs var:

- 5 1) bröd som bakats med vetemjöl med 30% inblandning av "Frisk-plus" smågrisfoder (Göransson L. m.fl., J. Vet. Med., B, 40: 478-484, 1993);
 2) bröd som bakats med vetemjöl med 30% inblandning av vanligt kornmjöl;
 3) samma som 2) fast med mältat kornmjöl;
 4) flingor bestående av mältat havre.
- 10 Resultaten av försöken anges i nedanstående tabell där försökspersonernas initialer anges, jämte aktiviteten i enheter per ml av ASP (1 enhet = den mängd ASP som ger 50% inhibition av koleratoxin-svaret). Inom parentes anges nettomängden tillsatta cerealier (således ej vetemjöl eller övriga cerealier som försökspersonerna intog efter måltiden med testcerealier).

15	Dag	Kost, dagar	Aktiviteten av ASP i blodet, enheter/ml		
			EE	SL	
	-135	-	0,0	0,0	
	-150	"Frisk + " bröd, 8 d	1,4 (15 g)	0,9 (26 g)	
20	-52	-	0,0	0,0	
	-31	kornbröd ktr, 10 d	0,0 (29 g)	0,0 (50 g)	
	0	-	0,0	0,1	
	8	mält. kornbröd, 7 d	1,0 (25 g)	0,5 (50 g)	
	21	-	0,0	0,4	
25	28	mält. havrefl., 13 dr	1,3 (25 + 25 g)	0,6 (60 g)	
	37	-	0,6	1,1	
	62	-	0,4	0,0	
			EJ	IJ	IL
	0	-	0,0	0,0	0,1
30	12	mält. havrefl., 10 d	1,0 (25 + 25 g)	0,7 (25 + 25 g)	1,0 (25 + 25 g)
	19	-	0,5	-	0,8

Normalt tycks inte ASP finnas i humant blod. Efter intag av bröd bakat på "Frisk+" smågrisfoder inducerades ASP i blodet hos EE och SL. Dessa två

- försökspersoner åt sedan bröd bakat på vanligt kornmjöl resp. mältat kornmjöl. Det vanliga kornbrödet inducerade ej ASP. Det mältade kornbrödet inducerade däremot ASP. Tolv dagar efter det att EE och SL slutat äta brödet hade ASP-värdet sjunkit till 0,0 hos EE och 0,4 hos SL. Samma personer åt därefter mältade havreflingor till filmjöl. Även i detta fall inducerades ASP. Liksom i föregående försök höjdes ASP-värdet hos EE till högt värde under försöksperioden för att sedan snabbt sjunka, medan SL fick högst ASP-värde en vecka efter försöksperioden. Försöket med mältade havreflingor upprepades med ytterligare tre personer. De fick alla höga ASP-värden under försöksperioden; en viss förhöjning registrerades även veckan efter att de slutat äta testflingorna.

Exempel 2

Försök med enzymtillsatt foder i grisar.

- Försöken på nyss avväjnda grisar utfördes på liknande sätt som tidigare beskrivits av Göransson m.fl. (1993). Ett konventionellt smågrisfoder utan tillsatser av antibiotika, snarlikt Lantmännens Växfor, samt samma foder digererat med tillsats av enzymer (en blandning av α - och β -amylas) till 2 X 5 kullar med början tre dagar innan avvänjningsdagen. Blodprov togs vid dagen för avvänjning (dag 0) samt sex dagar efter avvänjning (dag 6). Resultatet visade att kontrollgruppen ej hade detekterbara mängder av ASP i blodet medan försöksgruppen redan vid dag 0 hade en nivå av 0,9 enheter/ml som sedan steg till 1,5 enheter/ml (n = 10 st per grupp)

PATENTKRAV

1. Användning av produkter med enzymatisk aktivitet för framställning av ett födoämne som vid förtäring inducerar antisekretoriska proteiner (ASP).
2. Användningen enligt krav 1, **kännetecknad därav**, att födoämnet vid
5 förtäring ger en sådan induktion att 1 ml blod kommer att innehålla minst 0,5 enheter av ASP.
3. Användningen enligt krav 1 eller 2, **kännetecknad därav**, att produkterna med enzymatisk aktivitet är mältade cerealier.
4. Användningen enligt krav 3, **kännetecknad därav**, att de mältade
10 cerealierna utgörs av korn, vete, råg eller havre.
5. Användningen enligt krav 3, **kännetecknad därav**, att de mältade cerealierna utgörs av majs eller sorghum.
6. Användningen enligt något av kraven 3-5, **kännetecknad därav**, att de mältade cerealierna föreligger i blandning med omältade sådana.
- 15 7. Användningen enligt krav 1, **kännetecknad därav**, att det framställda födoämnet är frukostflingor, bröd, bullar eller pastaprodukter.
8. Enligt kraven 1-7 framställt födoämne.
9. Födoämne enligt krav 8 i form av frukostflingor, bröd, bullar eller pasta-
produkter.
- 20 10. Födoämne enligt krav 8 i form av ett pulver avsett att utröras i vätska till en dryck.

SAMMANDRAG

Användning av produkter med enzymatisk aktivitet för framställning av ett födoämne, inklusive foder, som vid förtäring inducerar antisekretoriska proteiner, och sålunda framställda födoämnen. Produkterna med enzymatisk aktivitet kan exempelvis vara mältade cerealier.

5

9
7
5
3
2
1